Synthese von Polypeptiden.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

GENEHMIGT

VON DER PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT

DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT

ZU BERLIN.

ACAD.
LUGD. BAT.
BIBL.

Von

Alfred Hirszowski

aus Warschau (Russisch-Polen).

Tag der Promotion: 19. Dezember 1908.

46

Referenten:

Professor Dr. **Fischer.**

Professor Dr. **Nernst.**

Druck und Verlag der
Universitäts-Buchdruckerei von Gustav Schade (Otto Francke) in Berlin N.
Linienstr. 158.

Meinem lieben Vater!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41533915_0090

Theoretischer Teil.

Bei der Hydrolyse der verschiedenartigsten Eiweißstoffe sind stets dieselben Aminosäuren erhalten worden. Bald fehlt die eine oder andere, im großen und ganzen herrscht aber weitgehende Übereinstimmung. Die Kenntnis der Zusammensetzung der Proteine an Aminosäuren ist durch die Einführung der Estermethode von Emil Fischer ganz wesentlich erweitert worden. Sie beruht auf der Darstellung der Ester der Aminosäuren[1]).

Da nun die Monoaminosäureester einen zum Teil recht weit auseinanderliegenden Siedepunkt besitzen, so ist die Möglichkeit geboten, durch fraktionierte Destillation der Ester eine weitgehende Trennung der einzelnen Aminosäuren zu bewirken.

Durch Verseifung der Ester lassen sich die Monoaminosäuren leicht wieder zurückgewinnen.

[1]) Vortrag, gehalten in der Deutschen Chem. Gesellschaft am 6. Januar 1906. Ber. d. Chem. Gesellsch. 39, 1, S. 542 (1906).

Mit der Feststellung, daß am Aufbau der Proteine Aminosäuren, und zwar im wesentlichen immer dieselben, beteiligt sind, hatte die Eiweißchemie unzweifelhaft einen großen Fortschritt errungen.

Ein weiteres wichtiges Problem ist nun die Feststellung, in welcher Art diese Aminosäuren unter sich verknüpft sind. Bis vor kurzem waren unsere Kenntnisse nach dieser Richtung überaus dürftige. Man hatte zwar versucht, durch partielle Hydrolyse aus den Eiweißstoffen Produkte zu isolieren, die mehr als eine Aminosäure enthielten. Diese Versuche haben alle fehlgeschlagen, weil es ganz unmöglich war, diese Körper zu reinigen, und vor allem ihre Reinheit und Einheitlichkeit festzustellen.

Ein Wendepunkt in der Forschung auf diesem Gebiete trat ein, als Emil Fischer die Synthese von Verbindungen begann, die mehr als eine Aminosäure in säureamidartiger Bindung enthalten.

Verschiedene Umstände wiesen darauf hin, daß in der Tat ganz analoge Bindungsarten auch im Eiweiß enthalten sind. — So zeigen manche Polypeptide Eigenschaften, die den Peptonen zukommen. Manche zeigen die Biuretreaktion, andere fallen mit Phosphorwolframsäure, und neuerdings sind sogar Polypeptide bekannt geworden, die mit Ammoniumsulfat aussalzbar sind.

Ein endgültiger Beweis, daß tatsächlich im Eiweiß die Aminosäuren säureamidartig verknüpft

sind, wurde durch den Nachweis erbracht, daß bei der partiellen Hydrolyse mancher[2]) Eiweißkörper Polypeptide entstehen.

Bis jetzt sind die folgenden Dipeptide aufgefunden worden[3]):

Aus Seide:

Glycyl-d-alanin;
Glycyl-l-tyrosin.

Aus Gliadin:

l-Leucyl-d-glutaminsäure.

Aus Elastin:

d-Alanyl-l-leucin;
Glycyl-l-leucin;
Glycyl-d-valin.

Ferner ist aus Seide ein Tetrapeptid, bestehend aus zwei Molekülen Glykokoll, 1 Molekül d-Alanin und 1 Molekül l-Tyrosin, erhalten worden[4]). Dieses Polypeptid zeigt nun interessanterweise Eigenschaften, die den Albumosen eigen sind. Es fällt aus konzentrierter wässeriger Lösung mit Ammoniumsulfat, und auch mit Koch-

---

[2]) E. Fischer und E. Abderhalden, Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch. 39, 1, S. 752 (1906).

[3]) E. Fischer und E. Abderhalden, Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch. 39, 2, S. 2317 (1906).

[4]) E. Fischer und E. Abderhalden, Sitzungsber. der Königl. Preuß. Akademie der Wissenschaft. vom 20. Juni 1907 (S. 575).

salzlösung, nach Zusatz von Essigsäure oder Salpetersäure, aus. Die Beobachtung ist von weittragendster Bedeutung.

Bei der Synthese der Polypeptide wurde zunächst von racemischen Aminosäuren ausgegangen. Die gebräuchlichste Methode war die, daß Halogenfettsäurechloride mit Aminosäuren gekuppelt wurden. Das Halogen wurde dann in der entstandenen Verbindung mit Ammoniak ausgetauscht.

Mit Ausnahme des Glykokolls, das kein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthält, sind alle übrigen Aminosäuren optisch aktiv.

Verwendet man racemische Aminosäuren zur Synthese von Polypeptiden, dann erhält man mehrere isomere Verbindungen, und zwar entspricht ihre Anzahl der van 't Hoffschen Regel 2^n.

Für die Forschung der Proteine haben natürlich in allererster Linie diejenigen Polypeptide Interesse, die die in Natur vorkommenden optisch aktiven Aminosäuren enthalten. Es war daher von allergrößtem Werte, als Methoden geschaffen wurden, die es ermöglichten, Polypeptide aufzubauen, die ausschließlich Bausteine der Eiweißstoffe enthalten.

Die eine dieser Methoden beruht auf der Entdeckung der Aminosäurechloride[5]).

So kann man z. B. d-Alanin in d-Alanin-

---

[5]) E. Fischer, Berichte der Deutsch. Chem. Gesellsch. 39, 1, S. 544 (1906).

chlorid verwandeln und dieses mit d-Alanin kuppeln; man erhält dann direkt d-Alanyl-d-alanin.

Die zweite Methode beruht auf der Überführung von optisch aktiven Aminosäuren in die entsprechenden Halogenfettsäuren. Hierbei findet in manchen Fällen eine Umkehrung statt, wie das folgende Beispiel zeigt:

Läßt man auf l-Alanin Nitrosylbromid einwirken, so erhält man nicht, wie man erwarten sollte, l-α-Brompropionsäure, sondern d-α-Brompropionsäure.

Man bezeichnet diesen Vorgang als Waldensche Umkehrung[6]).

Wird nun die d-α-Brompropionsäure mit Phosphorpentachlorid behandelt, so erhält man d-α-Brompropionylchlorid. Mit diesem kann man wiederum d-Alanin kuppeln. Es entsteht d-α-Brompropionyl-d-alanin. Läßt man auf diese Verbindung Ammoniak einwirken, dann gelangt man schließlich zu dem Dipeptid d-Alanyl-d-alanin.

Das zu den erwähnten Versuchen notwendige l-Alanin kann man entweder durch Spaltung vom racemischen Alanin mit Hilfe der Benzoylverbindung und Darstellung des Brucinsalzes erhalten. Oder aber man vergärt die d-Komponenten des d-l-Alanins mit Hefe; es bleibt dann reines l-Alanin übrig.

---

[6]) E. Fischer, Berichte der Deutsch. Chem. Gesellsch. 40, 1, S. 491 (1907).

Bei meinen Versuchen habe ich mich beider Methoden bedient.

Es sind folgende Verbindungen dargestellt worden:

1. Dipeptide:

   d-Alanyl-l-tyrosin;
   d-Alanyl-3 5-dijod-l-tyrosin;
   l-Leucyl-l-tyrosin.

2. Tripeptide:

   Glycyl-d-alanyl-l-tyrosin.

3. Tetrapeptide:

   d-Alanyldiglycylglycin.

Experimenteller Teil.

Dipeptide.

I. d-Alanyl-l-tyrosin.

Bei der Darstellung des d-Alanyl-l-tyrosins benutzte ich denselben Weg, den Emil Fischer bei der Gewinnung des Glycyl-l-tyrosins eingeschlagen hat.

d-α-Brompropionyl-l-tyrosinäthylester.

Ich ging aus vom salzsauren l-Tyrosinäthylester und vom d-α-Brompropionylchlorid. Das zur Herstellung des ersteren verwendete Tyrosin war durch Salzsäure-Hydrolyse aus Seidenabfällen gewonnen worden. Es zeigte $[\alpha]_D^{20^0} = -11{,}17^0$ in 4proz. Salzsäure. Zur Gewinnung des d-α-Brompropionylchlorids ging ich von l-Alanin

aus, das ich durch Spaltung von d-l-Alanin mit Hefe gewonnen hatte. Es zeigte $[\alpha]_D^{20^0} = -10{,}14^0$ in salzsaurer Lösung[1]). Die mit Hilfe von Nitrosylbromid dargestelte d-α-Brompropionsäure zeigte $[\alpha]_D^{20^0} = +47{,}36^0$.

15 g salzsaurer Tyrosinäthylester wurden mit 150 ccm Chloroform übergossen und nun unter Kühlung 61,5 ccm normaler Natronlauge (1 Mol.) zugefügt. Unter kräftigem Schütteln gab ich nun eine Lösung von 5,25 g ($^1/_2$ Mol.) d-α-Brompropionylchlorid in 52,5 ccm Chloroform hinzu und dann zur Ausnutzung des ausfallenden salzsauren Tyrosinäthylesters abwechselnd 30 ccm einer Lösung von 9,4 g trockenem Natriumkarbonat und, nochmals dieselbe Menge d-α-Brompropionylchlorid, in der gleichen Menge Chloroform gelöst. Nach Beendigung der Reaktion wurde die Chloroformlösung im Scheidetrichter von der wässerigen abgetrennt, letztere noch wiederholt mit Chloroform erschöpft und die vereinigten Chloroformauszüge mit Natriumsulfat getrocknet. Zur Gewinnung des in Lösung vorhandenen d-α-Brompropionyl-l-tyrosonäthylesters engte ich die Chloroformlösung unter stark vermindertem Drucke bei einer 35° C. des Wasserbades nicht übersteigenden Temperatur so lange ein, bis die Lösung sich trübte. Beim Stehen auf Eis trat bald Kristallisation ein. Die Mutterlauge dieser

[1]) E. F. Ehrlich: Biochem. Zeitschr. 1, 8—31, 21./6.

Kristallisation wurde, um den noch in Lösung befindlichen Teil des Kuppelungsproduktes zu gewinnen, mit Petroläther gefällt. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus heißem Wasser unter Anwendung von Tierkohle umkristallisiert. Die Ausbeute betrug 17,5 g = 83,33 Proz. der Theorie.

Zur Analyse wurde das Produkt im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet.

$C_{14}H_{18}BrNO_4$ (344,14):

0,198 g Substanz gaben 0,3553 g CO_2 und 0,0983 g H_2O.

Ber. 48,82 Proz. C 5,27 Proz. H.
Gef. 49,08 - C 5,55 - H.

0,18 g Substanz gaben 6 ccm N (19,5° C. und 768 mm).

Ber. 4,07 Proz. N.
Gef. 3,85 - N.

0,126 g Substanz gaben 0,0694 g Ag Br.

Ber. 23,28 Proz. Br.
Gef. 23,44 - Br.

d-α-Brompropionyl-l-tyrosinäthylester schmilzt. im Kapillarröhrchen erhitzt, bei 129—130° C. (Korr. 133,5—134,5). Er kristallisiert aus Wasser in büschelförmig angeordneten, langgestreckten Blättchen. Er ist in kaltem Wasser, Benzol und Äther schwer löslich, leicht löslich in heißem Wasser, Chloroform, absolutem Alkohol, Methylalkohol.

Essigester und Aceton, sehr leicht löslich in gewöhnlichem Alkohol, so gut wie unlöslich in Petroläther. Das Produkt gibt die Millonsche Reaktion.

d-α-Brompropionyl-l-tyrosin.

8 g d-α-Brompropionyl-l-tyrosinäthylester wurden mit 46,5 ccm normaler Natronlauge (2 Mol.) übergossen und nach einstündigem Stehen bei Zimmertemperatur die Natronlauge mit der äquivalenten Menge normaler Salzsäure neutralisiert. Nach dem Verdampfen der Lösung unter vermindertem Druck hinterblieb zunächst ein Öl, das bald kristallinisch erstarrte. Die Kristalle wurden aus Essigester umkristallisiert. Die Ausbeute an reinem d-α-Brompropionyl-l-tyrosin betrug 7 g = 95,3 Proz. der Theorie.

Zur Analyse wurde das Präparat im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet.

0,2032 g Substanz gaben 0,338 g CO_2 und 0,0875 g H_2O.

$C_{12}H_{14}O_4NBr$ (316,16):

Ber.	45,54 Proz.	C	4,43 Proz.	H.
Gef.	45,40 -	C	4,82 -	H.

0,2022 g Substanz gaben 7,4 ccm N (15,5° C. und 750 mm).

Ber. 4,44 Proz. N.
Gef. 4,20 - N.

0,1714 g Substanz gaben 0,1011 g Ag Br.

Ber. 25,29 Proz. Br.
Gef. 25,10 - Br.

Der Bromkörper sintert beim Erhitzen im Kapillarröhrchen bei 156° und schmilzt bei 161° C. (Korr. 165,2). Er kristallisiert aus Essigester in feinen, auf beiden Seiten zugespitzten Blättchen. Sie sind oft zu Rosetten angeordnet.

Das d-α-Brompropionyl-l-tyrosin ist leicht löslich in gewöhnlichem und absolutem Alkohol, in Aceton, Essigester, Methylalkohol und ebenso in heißem Wasser; dagegen löst es sich schwer in kaltem Wasser. In Chloroform, Benzol, Äther und Petroläther ist es unlöslich. Es gibt Millonsche Reaktion.

d-Alanyl-l-tyrosin.

5,5 g d-α-Brompropionyl-l-tyrosin wurden mit 37,5 ccm wässerigem Ammoniak von 25 Proz. übergossen und die Lösung drei Tage im Brutraum bei 37° C. aufbewahrt. — Der beim Verdampfen der ammoniakalischen Lösung unter ver-

mindertem Druck verbleibende Rückstand wurde mit absolutem Alkohol ausgekocht, der unlösliche Rückstand in wenig warmem Wasser gelöst und zu der Lösung absoluter Alkohol hinzugefügt, bis eine bleibende Trübung eintrat. Sehr bald trat Kristallisation ein. Die Ausbeute an reinem Dipeptid betrug 2,7 g = 62 Proz. der Theorie.

Das im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknete Präparat gab folgende Analysenwerte:

0,1791 g Substanz gaben 0,3732 g CO_2 und 0,0986 g H_2O.

$C_{12}H_{16}N_2O_4$ (252,2):

Ber.	57,14 Proz.	C	6,40 Proz.	H.
Gef.	56,83 -	C	6,16 -	H.

0,161 g Substanz gaben 15,1 ccm N (16° C. und 763 mm).

Ber.	11,15 Proz.	N.
Gef.	10,92 -	N.

Beim raschen Erhitzen des Dipeptids im Kapillarröhrchen beginnt es gegen 198° C. (Korr. 202,3) aufzuschäumen; es hat keinen konstanten Schmelzpunkt. Erhitzt man weiter, dann färbt sich der Schaum im Kapillarröhrchen gegen 252° gelb, und gegen 284—285° tritt dann völlige Zersetzung ein (Korr. 285—286°).

Es kristallisiert in prachtvollen, großen, sechsseitigen Tafeln des hexagonalen Systems.

Es löst sich leicht in heißem Wasser, schwerer in kaltem und Methylalkohol; in absolutem Alkohol, Äther und Petroläther ist es unlöslich.

0,2094 g Substanz; dazu ca. 10 ccm Wasser; Gesamtgewicht der Lösung 10,2418 g; $d_4^{20^0} = 1{,}009$; Drehung im 1-Dezimeterrohr bei 20° C. und Natriumlicht + 0,89. Mithin: $[\alpha]_D^{20^0} = +43{,}14^0$.

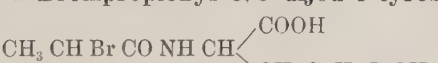
d-Alanyl-l-tyrosin wird von aktivem Pankreassaft vom Hunde sehr rasch in seine Komponenten zerlegt. Fügt man zu einer klaren Lösung des Dipeptids Pankreassaft hinzu, dann sieht man schon nach einstündigem Stehen der Flüssigkeit bei 37° C. Abscheidung von Tyrosinkristallen. Der Verlauf der Spaltung läßt sich auch polarimetrisch genau verfolgen.

Mit Millons Reagens färbt sich die wässerige Lösung rot.

Xantoproteinreaktion positiv. Biuretreaktion negativ. Mit Phosphorwolframsäure tritt auch in konzentrierter wässeriger Lösung keine Fällung ein.

II. d-Alanyl-3, 5-dijod-l-tyrosin.

d-α-Brompropionyl-3, 5-dijod-l-tyrosin.



5 g d-α-Brompropionyl-l-tyrosinäthylester wurden in 29 ccm normaler Natronlauge (2 Mol.)

gelöst und mit einer Lösung von 7,38 g Jod (4 Mol.) in Chloroform so lange unter Umschütteln versetzt, bis eine dauernde Färbung der Chloroformlösung eintrat. Nun wurden wiederum 29 ccm normaler Natronlauge (2 Mol.) und weitere Mengen der erwähnten Jodlösung in Chloroform zugegeben, bis wiederum Violettfärbung eintrat. Die wässerige Lösung trennten wir nunmehr im Scheidetrichter von der Chloroformlösung ab und säuerten sie mit verdünnter Salzsäure an. Es fiel sogleich ein grünlich gefärbtes Produkt im amorphen Zustande aus. Es wurde abfiltriert, in Alkohol gelöst und zu der Lösung nach dem Aufkochen mit Tierkohle und Abfiltrieren so lange kaltes Wasser hinzugefügt, bis eine bleibende Trübung auftrat. Nach einigem Stehen trat reichliche Kristallisation ein. Die Ausbeute betrug 7,2 g = 85 Proz. der Theorie.

Für die Analyse wurde das Produkt im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet.

0,1917 g Substanz gaben 0,1813 g CO_2 und 0,0411 g H_2O.

$C_{12}H_{12}BrJ_2NO_4$ (568,01):

Ber.	25,35	Proz.	C	2,13	Proz. H.
Gef.	25,79	-	C	2,40	- H.

0,1981 g Substanz gaben 4,5 ccm N (20° C. und 769 mm).

Ber.	2,47	Proz.	N.
Gef.	2,42	-	N.

0,202 g Substanz gaben 0,2318 g Halogensilber und 0,1516 g Ag Cl, 0,1659 g Ag J und 0,0659 g Ag Br.

Ber. 58,78 Proz. Hal. 44,70 Proz. J 14,08 Proz. Br.
Gef. 58,26 - Hal. 44,38 - J 13,88 - Br.

d-α-Brompropionyl-dijod-l-tyrosin schmilzt beim raschen Erhitzen bei 212—213° C. (Korr. 217,3) unter Zersetzung. Es kristallisiert aus heißem absoluten Alkohol nach Zusatz von kaltem Wasser in zu Rosetten vereinigten, langgestreckten, dünnen Nadeln.

Es löst sich leicht in Aceton, Essigester, Methylalkohol und absolutem Alkohol; etwas schwerer löslich als im letzteren ist es in gewöhnlichem Alkohol. In Wasser, Chloroform, Benzol, Äther und Petroläther ist es unlöslich.

Mit Millons Reagens gibt es keine Rotfärbung.

d-Alanyl-3, 5-dijod-l-tyrosin.

6 g d-α-Brompropionyl-3, 5-dijod-l-tyrosin wurden in 30 ccm 25 Proz. Ammoniak gelöst und die Lösung 3 Tage bei 37° im Brutraum aufbewahrt.

Den nach dem Verdampfen der ammoniakalischen Lösung verbleibenden Rückstand kochte ich mit Wasser aus. Der unlösliche Rückstand

kristallisiert aus wässerigem Ammoniak in zu Büscheln vereinigten, zugespitzten Blättchen.

Die Ausbeute betrug 4,4 g = 83 Proz. der Theorie.

Für die Analyse wurde das Produkt im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet.

0,2105 g Substanz gaben 0,2185 g CO_2 und 0,0548 g H_2O.

$C_{12}H_{14}J_2O_4N_2$ (504,11):

Ber.	28,56 Proz.	C	2,80 Proz.	H.
Gef.	28,31 -	C	2,91 -	H.

0,1921 g Substanz gaben 9,2 ccm N (26° C. und 771 mm).

Ber.	5,57 Proz.	N.
Gef.	5,32 -	N.

0,1942 g Substanz gaben 0,1798 g AgJ.

Ber.	50,37 Proz.	J.
Gef.	50,13 -	J.

0,3276 g Substanz; dazu ca. 3,8 ccm 25proz. Ammoniak; Gesamtgewicht der Lösung 4,127 g; $d_4^{20°} = 0{,}97416$; Drehung im 1-Dezimeterrohr bei 20° C. und Natriumlicht + 4,86°. Mithin: $[\alpha]_D^{20°} = +62{,}88°$.

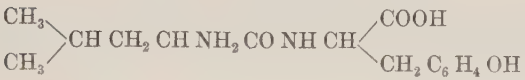
d-Alanyl-3, 5-dijod-l-tyrosin färbt sich gegen 188° C. gelb, bei 205° C. wird es braun und schmilzt dann unter Zersetzung gegen 227° (Korr. 231,5).

Es ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aceton, Äther, Petroläther, Benzol, Essigester, Chloroform, Methylalkohol, schwer löslich in Natronlauge, löslich in Ammoniak.

Mit Millons Reagens gibt es keine Rotfärbung.

Die Xanthoproteinreaktion ist vorhanden. Biuretreaktion negativ.

III. l-Leucyl-l-tyrosin.



d-α-Bromisocapronyl-l-tyrosin.

Ich ging auch hier vom salzsauren Tyrosinäthylester aus. Das zur Kuppelung notwendige d-α-Bromisocapronylchlorid bereitete ich aus d-Leucin, das ich durch Spaltung von racemischem Leucin mit Hilfe der Formylverbindung erhalten habe[1]).

13 g salzsaurer Tyrosinester wurden mit 100 ccm Chloroform übergossen und mit 53 ccm normaler Natronlauge (1 Mol.) unter Kühlung geschüttelt. Die Chloroformlösung wurde im Scheidetrichter abgehoben und mit Natriumsulfat getrocknet.

[1]) E. Fischer und O. Warburg, Ber. d. D. Chem. Gesellschaft 38, S. 3997 (1906).

Nun gab ich innerhalb einer halben Stunde 6 g (1 Mol.) d-α-Bromisocapronylchlorid, in 30 ccm Chloroform gelöst, unter fortwährendem Umschütteln hinzu. Hierauf wurde die Chloroformlösung vom ausgefallenen salzsauren Tyrosinäthylester abfiltriert, mit Natriumsulfat getrocknet und nunmehr unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft. Es hinterblieb ein Öl. Es enthält den d-α-Bromisocapronyl-l-tyrosinäthylester. Ich habe ihn nicht isoliert, sondern sofort die Verseifung vorgenommen, indem ich das Öl in 60 ccm normaler Natronlauge löste und dann nach zweistündigem Umschütteln die äquivalente Menge normaler Salzsäure zugab.

Es fiel wiederum ein Öl aus. Um es vom beigemengten Kochsalz zu befreien, kochte ich es unter Zusatz von Tierkohle mit absolutem Aceton aus und engte die nunmehr klare Lösung zur Trockne ein; der Rückstand wurde mit Petroläther angerieben, worauf er nach kurzer Zeit erstarrte.

Es ist mir nicht geglückt, diesen Körper in Kristallform zu erhalten. Es unterliegt jedoch keinem Zweifel, daß d-α-Bromisocapronyl-l-tyrosin kristallisiert. Ich habe offenbar die richtigen Bedingungen noch nicht getroffen. In kleinen Mengen habe ich es übrigens in Kristallform erhalten.

Die Ausbeute betrug 6,3 g = 67 Proz. der Theorie[1])

[1]) Wobei allerdings zu beachten ist, daß die Hälfte des l-Tyrosinäthylesters als Hydrochlorat der Reaktion entzogen wurde.

Das über Schwefelsäure im Vakuumexsikkator getrocknete Präparat zeigte folgende Analysenzahlen:

0,1997 g Substanz gaben 0,3692 g CO_2 und 0,0957 g H_2O.

$C_{15}H_{20}O_4NBr$ (358,15):

Ber.	50,26 Proz. C	5,63 Proz. H.
Gef.	50,42 - C	5,36 - H.

0,1844 g Substanz gaben 5,8 ccm N (22,5° C. und 769 mm).

Ber.	3,92 Proz. N.
Gef.	3,58 - N.

Das amorphe Produkt sinterte bei 118° C. und schmolz gegen 137—138° (Korr. 141,5).

Die Millonsche Reaktion war positiv.

l-Leucyl-l-tyrosin.

2,5 g d-α-Bromisocapronyl-l-tyrosin wurden mit 12,5 ccm einer 25proz. Ammoniaklösung 4 Tage im Brutraum stehen gelassen.

Die Gewinnung des reinen Dipeptids bereitete einige Schwierigkeiten, weil es nicht gelingen wollte, den nach dem Abdampfen der ammoniakalischen Lösung verbleibenden Rückstand von Chlor ganz

zu befreien. Ich nahm deshalb den Rückstand in etwas mehr als der berechneten Menge Barytlösung auf und verdampfte unter vermindertem Druck fast zur Trockne. Der Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen, der Baryt quantitativ mit Schwefelsäure entfernt und das Filtrat von Baryumsulfat mit überschüssigem Silbersulfat geschüttelt; schließlich entfernte ich nach erfolgter Filtration das gelöste Silber mit $^1/_{10}$ normaler Salzsäure und die vorhandene Schwefelsäure quantitativ mit Baryt.

Es ist mir auch hier nicht geglückt, das Dipeptid im kristallisierten Zustande zu erhalten. Ich gewann es nach dem Verdampfen seiner Lösung als amorphes Pulver.

Zu seiner Reinigung löste ich es in Wasser und fällte durch Zusatz von Alkohol und Äther.

Die Ausbeute betrug 0,9 g = 45 Proz. der Theorie.

Zur Analyse wurde das Präparat bei 100° C. im Vakuum getrocknet.

0,1613 g Substanz gaben 0,3598 g CO_2 und 0,1069 g H_2O.

$C_{15}H_{22}N_2O_4$ (294,25):

Ber.	61,17	Proz.	C	7,53	Proz. H.
Gef.	60,84	-	C	7,41	- H.

0,121 g Substanz gaben 10,1 ccm N (25° C. und 775 mm).

Ber. 9,54 Proz. N.
Gef. 9,45 - N.

0,108 g Substanz; dazu ca. 5 ccm Wasser; Gesamtgewicht der Lösung 5,1153 g; $d_4^{20°} = 1.0048$; Drehung im 1-Dezimeterrohr bei 20° C. und Natriumlicht + 0,22°. Mithin: $[\alpha]_D^{20°} = + 10{,}37°$.

Das l-Leucyl-l-tyrosin färbt sich beim Erhitzen im Kapillarrohr gegen 231° gelb; es wird bei 256° braun und schmilzt schließlich unter Zersetzung bei 264 - 265° C. (Korr. 268,7—269,7°).

Es löst sich in kaltem Wasser ziemlich schwer; in Alkohol ist es so gut wie unlöslich und in Äther ganz unlöslich.

Millonsche Reaktion positiv, Xanthoproteinreaktion ebenfalls; die Biuretreaktion ist negativ. Mit Phosphorwolframsäure gibt die wässerige Lösung des Dipeptids einen im Überschuß des Fällungsmittels löslichen amorphen Niederschlag.

Tripeptid.

Glycyl-d-alanyl-l-tyrosin.

Chloracetyl-d-alanyl-l-tyrosin.

Zur Darstellung dieser Verbindung ging ich von dem oben beschriebenen d-Alanyl-l-tyrosin aus.

5 g dieses Dipeptids wurden in 39,68 ccm normaler Natronlauge (2 Mol.) gelöst und bei guter Kühlung und fortwährendem Schütteln abwechselnd eine Lösung von 2,86 g Chloracetylchlorid (1,2 Mol.) in 20 ccm Äther und 19,84 ccm normaler Natronlauge (1 Mol.) zugefügt.

Das Reaktionsgemisch wurde dann mit 35,71 ccm normaler Salzsäure (1,8 Mol.) angesäuert.

Den nach dem Verdampfen der Lösung unter vermindertem Druck verbleibenden Rückstand kochte ich mit absolutem Alkohol aus. Die alkoholische Lösung ließ ich nun nach erfolgtem Einengen im Vakuumexsikkator verdunsten. Schließlich fällte ich das verbleibende Öl mit Äther und erhielt den Halogenkörper in Form einer feinen, pulverartigen Masse.

Die Ausbeute von diesem Produkt betrug 4,9 g = 75 Proz. der Theorie.

Für die Analyse wurde das Produkt im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet.

0,2032 g Substanz gaben 0,3817 g CO_2 und 0,1035 g H_2O.

$C_{14}H_{17}O_5N_2Cl$ (328,66):

Ber.	51,12 Proz.	C	5,21 Proz.	H.
Gef.	51,23 -	C	5,69 -	H.

0,152 g Substanz gaben 10,9 ccm N (23° C. und 776 mm).

Ber.	8,54 Proz.	N.
Gef.	8,21 -	N.

Die amorphe Verbindung sintert beim Erhitzen im Kapillarröhrchen gegen 97°, schmilzt zur schäumigen Masse gegen 108°; gegen 166° C. verschwinden die Bläschen, und die entstehenden Öltröpfchen färben sich dann gegen 210° C. gelb; gegen 236° C. tritt dann völlige Zersetzung ein.

Das Chloracetyl-d-alanyl-l-tyrosin löst sich in gewöhnlichem und absolutem Alkohol und in gewöhnlichem Aceton.

Millonsche Reaktion positiv.

Glycyl-d-alanyl-l-tyrosin.

$$CH_2\,NH_2\,CO\,NH\,CH\,CH_3\,CO\,NH\,CH\begin{cases}COOH\\CH_2\,C_6\,H_4\,OH\end{cases}$$

Zu der Darstellung dieses Tripeptids übergoß ich 3 g Chloracetyl-d-alanyl-l-tyrosin mit 15 ccm 25proz. Ammoniak und ließ die Lösung 4 Tage im Brutraum bei 37° C. stehen.

Sie wurde dann wie gewöhnlich unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft. Das Halogen entfernte ich in derselben Weise, wie ich es eben beim l-Leucyl-l-tyrosin beschrieben habe.

Es ist mir auch hier nicht geglückt, das Tripeptid in Kristallform zu erhalten. Ich gewann es durch Fällen seiner konzentrierten, wässerigen Lösung mit Alkohol als amorphes Pulver.

Die Ausbeute betrug 1,3 g = 46 Proz. der Theorie.

Das bei 100° C. im Vakuum getrocknete Präparat gab folgende Analysenzahlen:

0,1421 g Substanz gaben 0,2811 g CO_2 und 0,079 g H_2O.

$C_{14}\,H_{19}\,N_3\,O_5$ (309,26):

Ber.	54,32 Proz.	C	6,19 Proz.	H.
Gef.	53,95 -	C	6,36 -	H.

0,1417 g Substanz gaben 16,7 ccm N (23° C. und 767 mm).

Ber.	13,62 Proz.	N.
Gef.	13,34 -	N.

0,2084 g Substanz; dazu ca. 4,5 ccm Wasser; Gesamtgewicht der Lösung 4,6438 g; $d_4^{20^0} = 1{,}0149$; Drehung im 1 Dezimeterrohr bei 20° C. und Natriumlicht — 0,22°. Mithin: $[\alpha]_D^{20^0} = -4{,}83°$.

Das amorphe Produkt wird beim Erhitzen im Kapillarröhrchen gegen 193° gelb, es zersetzt sich unter Schäumen gegen 204° C. (Korr. 208°).

In Wasser löst es sich ziemlich leicht, während in Alkohol, Aceton, Essigester, Äther, Petroläther und Chloroform das Produkt unlöslich ist.

Millonsche Reaktion positiv. Xanthoproteinreaktion positiv. Die alkalische Lösung des Tripeptids gibt auf Zusatz einer verdünnten Kupfersulfatlösung eine schöne violettrote Färbung. — Mit Phosphorwolframsäure entsteht ein amorpher Niederschlag, der sich im Überschuß des Lösungsmittels wieder auflöst. Mit Ammonsulfat gibt die konzentrierte wässerige Lösung des Tripeptids eine schwache Trübung; höchstwahrscheinlich wurde sie durch eine Verunreinigung verursacht.

Tetrapeptid.

d-Alanyldiglycylglycin.

$CH_3\,CH\,NH_2\,CO\,(NH\,CH_2\,CO)_2\,NH\,CH_2\,COOH$

d-α-Brompropionyldiglycylglycin.

$CH_3\,CH\,Br\,CO\,(NH\,CH_2\,CO)_2\,NH\,CH_2\,COOH$

Zu seiner Darstellung verwendete ich Diglycylglycin und d-α-Brompropionylchlorid.

Ersteres hatte ich aus Glycinanhydrid und Chloracetylchlorid bereitet[1]. Die Darstellung des d-α-Brompropionylchlorids war dieselbe, wie sie schon bei d-α-Brompropionyl-l-tyrosinäthylester erwähnt worden ist.

2,33 g Diglycylglycin wurden in 6,16 ccm zweifach normaler Natronlauge (1 Mol.) gelöst. Zu der Lösung fügte ich unter Kühlung und fortwährendem Schütteln 2,4 g d-α-Brompropionylchlorid (1,25 Mol.), in 20 ccm Äther gelöst, und ferner 12,32 ccm zweifach normaler Natronlauge (2 Mol.) zu. Schließlich säuerte ich das Reaktionsgemisch mit 21,55 ccm normaler Salzsäure (1,75 Mol.) an und engte dann die Flüssigkeit unter vermindertem Druck so lange ein, bis die Abscheidung von Kristallen begann. Die Mutterlauge der Kristalle engte ich zur Trockne ein, löste dann den Rückstand bei gleichzeitiger

[1]) E. Fischer, Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch. 39, 3, S. 2931 (1906).

Anwendung von Tierkohle in heißem Wasser auf und kühlte dann auf Eis ab.

Die Ausbeute betrug 3,1 g = 77 Proz. der Theorie.

Für die Analyse wurde das Produkt im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet; es gab folgende Analysenwerte:

0,1706 g Substanz gaben 19,3 ccm N (25° C. und 769 mm).

$C_9 H_{14} O_5 N_3 Br$ (324,19):

Ber. 12,99 Proz. N.
Gef. 12,71 - N.

0,1735 g Substanz gaben 0,2102 g CO_2 und 0,0719 g H_2O.

Ber. 33,31 Proz. C 4,35 Proz. H.
Gef. 33,04 - C 4,64 - H.

0,207 g Substanz gaben 0,1187 g Ag Br.

Ber. 24,76 Proz. Br.
Gef. 24,40 - Br.

Das d-α-Brompropionyldiglycylglycin kristallisiert aus heißem Wasser in äußerst feinen, zu Büscheln vereinigten Nadeln.

Es wird beim Erhitzen im Kapillarröhrchen gegen 183° C. braun und schmilzt bei 185° C. (Korr. 189,5) zu einer schäumenden Masse.

Es ist in heißem Wasser löslich, unlöslich in Alkohol, Aceton, Äther, Petroläther, Benzol, Essigester, Chloroform und Methylalkohol.

d-Alanyldiglycylglycin.

$CH_3 CH NH_2 CO (NH CH_2 CO)_2 NH CH_2 COOH$.

Die Überführung des d-α-Brompropionyl-diglycylglycins in das Tetrapeptid d-Alanyldiglycylglycin erfolgte in der üblichen Weise durch Stehenlassen des Halogenkörpers mit 25 proz. Ammoniak bei 37° C. im Brutraum.

Auch hier entfernte ich das Halogen mit Silber[1]).

Das Tetrapeptid kristallisiert aus Wasser nach Zusatz von Alkohol in feinen Nadeln.

Die Ausbeute betrug 2,3 g = 71 Proz. der Theorie.

Das bei 100° C. im Vakuum getrocknete Präparat gab folgende Analysenzahlen:

0,1530 g Substanz gaben 28,5 ccm N (20° C. und 761 mm).

$C_9 H_{16} O_5 N_4$ (260,15):

Ber. 21,54 Proz. N.
Gef. 21,24 - N.

0,2131 g Substanz gaben 0,3231 g CO_2 und 0,1198 g H_2O.

Ber. 41,51 Proz. C 6,19 Proz. H.
Gef. 41,33 - C 6,24 - H.

[1]) E. Fischer, Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch. 41, 1, S. 864 (1908).

0,2654 g Substanz; dazu ca. 8 ccm Wasser; Gesamtgewicht der Lösung 8,3308 g, $d_4^{20^\circ} = 1{,}0116$; Drehung im 1 Dezimeterrohr bei 20° C. und Natriumlicht + 0,87°. Mithin $[\alpha]_D^{20^\circ} = +26{,}99^\circ$.

Das Tetrapeptid färbt sich beim Erhitzen im Kapillarröhrchen gegen 225° C. (Korr. 229,3) gelb; gegen 233° C (Korr. 237,3) wird es braun, und gegen 249—250° C. (Korr. 253,7) tritt dann totale Zersetzung ein.

Es löst sich ziemlich leicht in Wasser; in Alkohol, Aceton und Essigester ist es sehr schwer löslich.

Seine wässerige Lösung färbt sich nach Zusatz von Alkali und wenig verdünnter Kupfersulfatlösung schön rosarot. Die konzentrierte wässerige Lösung fällt mit Phosphorwolframsäure; schon in einem geringen Überschuß des Lösungsmittels löst sich der amorphe Niederschlag auf.

Die vorliegende Arbeit wurde im I. Chemischen Institut der Universität Berlin im November 1907 begonnen und im Juni 1908 zu Ende geführt.

Herrn Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Emil Fischer erlaube ich mir an dieser Stelle meinen ergebensten Dank für das mir bewiesene Wohlwollen auszudrücken.

Herrn Prof. Dr. Emil Abderhalden fühle ich mich für die Anregung zu dieser Arbeit und die unausgesetzte liebenswürdige Unterstützung während ihrer Ausführung zu ganz besonderem Dank verpflichtet.

Lebenslauf.

Am 17. Dezember 1882 wurde ich, Alfred Hirszowski, als Sohn des Rentiers Eduard Hirszowski und seiner verstorbenen Frau Emma, geb. Lauber, in Warschau (Russisch-Polen) geboren und in der evangelischen Religion erzogen. Zuerst besuchte ich das 4. Philologische Gymnasium in Warschau, welches ich im Juni 1903 mit dem Reifezeugnis verließ. Hierauf studierte ich während des Wintersemesters 1903/4 an der Warschauer Universität Jura, vom Sommersemester 1904 bis Sommersemester 1906 an der Lemberger Technischen Hochschule Chemie, hierauf im Sommersemester 1906 an der Lemberger Universität Chemie. Vom Wintersemester 1906/7 bis zum Wintersemester 1908/9 studierte ich an der Königl. Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin Chemie. Im Mai 1907 bestand ich am I. Chemischen Institut zu Berlin die praktische Verbandsprüfung, im Juni 1907 die theoretische und am 3. Dezember 1908 an der Philosophischen Fakultät der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin die Promotionsprüfung.

Während meiner Studienzeit besuchte ich die Vorlesungen folgender Herren Professoren und Dozenten:

In Lemberg: Krygowski, Lewiński, Niedźwiedzki, Niementowski, Nusbaum, Olearski, Opolski, Pawlewski, Pilat, Radziszewski, Syniewski, Syroczyński, Tołłoczko, Twardowski, Wawnikiewicz, Wołoszczak, Zdobnicki.

In Berlin: Abderhalden, Diels, Döring, Emmerling, E. Fischer, van 't Hoff, Nernst, Paulsen, Pschorr, Riehl, Virchow, Warburg, Wichelhaus.

Allen meinen hochverehrten Lehrern bin ich zu größtem Danke verpflichtet.